

卵黄レシチンのハブ毒およびすい臓リパーゼ による酵素分解について

野田 万次郎・森田 拓郎

MANJIRO NODA and TAKURO MORITA : Enzymic hydrolysis
of egg lecithin by *Trimeresurus flavoviridis* venom
and a pancreatic lipase preparation

摘 要 卵黄レシチン分子における脂肪酸の分布の解明に利用する目的で、ハブ毒レシチナーゼAおよびすい臓リパーゼ製品（ステアプシン）中のレシチナーゼを用いて同レシチンおよびリゾレシチンの酵素分解を行ない、生成物を調査した。ステアプシンはレシチナーゼAまたはBとしての作用を有すると同時にレシチナーゼD（ホスホリパーゼC）としても働き、ジ-およびモノグリセリドを生成する。またこの際脱離する脂肪酸は飽和酸が多く、ハブ毒レシチナーゼAによつて脱離する脂肪酸がほとんど不飽和酸であるのと対照的であり、両酵素のエステル結合切断位置が異なることを示唆している。その他蛇毒で生成したリゾレシチンの酸化反応や、すい臓リパーゼのグリセリド分解における特性などから考えて、少なくともハブ毒レシチナーゼAの作用点もグリセリル基の β -位置を主とするものと推定できる。

緒 言

レシチン分子における脂肪酸の分布を知ることはレシチンの生理学的意義や脂質の生合成に関連する問題を解く上で有力な手がかりを得ることになるが、近年脂質分解酵素を利用してこの点を明らかにする研究がしばしば行なわれるようになった。レシチンがレシチナーゼAの作用によつて不飽和酸を脱離し、飽和酸を持つたリゾレシチンを生成することは以前より認められていたが Hanahan¹⁾ はレシチナーゼAの作用は脂肪酸の種類よりも脂肪酸の結合位置に対して特異的で、グリセリル基の α' -位置を選択的に切ると発表した。しかし最近に至りまず Tattre²⁾ が、ついで Hanahanら³⁾ や de Haas ら⁴⁾ もレシチナーゼAはグリセリル基の β -位置のエステル結合を特異的に切ることを証明し、従来の説を訂正した結果、現在ではこの説に従つてレシチン、特に卵黄レシチンでは α' -位置に飽和酸が、 β -位置に不飽和酸がそれぞれ結合していると信ぜられている。

著者はさきに大豆ホスファチジルイノシットにハブ毒ホスホリパーゼAおよび市販すい臓リパーゼ製品（ステアプシン）を作用させたところ、後者はホスホリパーゼAとしての作用のほか、ホスホリパーゼB

およびCとしての作用も示すことを認めたが⁵⁾、本報においては同様の実験を卵黄レシチンに試み、その酵素分解の径路を追跡するとともに、上記研究者らとは異なつた方法で卵黄レシチンの脂肪酸分布の問題、および蛇毒レシチナーゼAの作用点の問題を解明しようとした。

試料および実験方法

試料卵黄レシチン

Pangborn 法⁶⁾ を一部改変して卵黄レシチンを製取した。なおその一部はさらに後記のケイ酸カラムを使つて精製している。

分 析 法

リンは Allen 法⁷⁾ の改変法、窒素はマイクロケルダール法、コリンは Wheeldon-Collins 法⁸⁾ で定量した。結合脂肪酸はアルカリまたは酸加水分解後、常法通りエーテルで抽出して回収、秤量した。脂肪酸組成の分析には下記ペーパークロマトグラフィーを利用するとともに、アルカリ異性化法⁹⁾¹⁰⁾ をも併用した。 α - および β -モノグリセリドの定量は過ヨウ素酸酸化法¹¹⁾ によつた。

クロマトグラフィー

リン脂質の分離：ケイ酸カラムを用いてレシチン

トリゾレシチンの精製, または両者の分離を行なった。一例を示すと 110° で2時間活性化したシリカゲル(関東化学) 40g を内径 2.7 cm のカラムにクロロホルムとともに詰め, 試料 1g を少量のクロロホルムに溶かした溶液を加え, ついでクロロホルム, クロロホルム-メタノール(容量比, 7:1, 4:1, 3:2, 1:1, 1:4, 1:6) で, メタノールの含有比を次第に増加して順次溶出する。そのそれぞれの展開溶媒の使用量は 200~400 ml, 溶出液は 20~50 ml ずつ分取した。レシチンはクロロホルム-メタノール(3:2) で, リゾレシチンは同じく(1:4) または(1:6) で溶出する。

グリセリドの分離: Quinlin 法¹²⁾ を改変して適用した。グリセリド混合物 0.2~0.4 g を少量のベンゼンに溶かした溶液を, シリカゲル(関東化学) 17 g を詰めたカラム(1.9×16 cm) に加え, 引き続きベンゼン, ベンゼン-エーテル(9:1), エーテル各 150 ml ずつで順次展開溶出し, 溶出液は 30 ml ずつ分取した。ベンゼン-エーテル(9:1) によつてジグリセリドが, エーテルによつてモノグリセリドが完全に分離して溶出する。

リン脂質のパーパークロマトグラフィー: ケイ酸固定口紙を使用しジイソブチルケトン-酢酸-水(8:5:1) で展開する Marinetti 法¹³⁾¹⁴⁾ によつた。コリンおよびコリン脂質の呈色はリンモリブデン酸-塩化第一スズ発色による。またこの呈色スポットを利用したデンシトメーターによる定量法でレシチンとリゾレシチンの定量を行なった。

水溶性リン化合物およびグリセリンの検出: 東洋口紙 No. 2 を用い, エタノール-水(8:1) またはイソプロパノール-ギ酸-水(3:1:1) で上昇展開した。リン化合物一般の検出にはアセトン溶液とした Hanes-Isherwood 試薬による噴霧呈色, コリン含有化合物の検出にはリンモリブデン酸-塩化第一スズ呈色, またグリセリンの検出にはアンモニア性硝酸銀による噴霧呈色が用いられた。

脂肪酸, グリセリド, その他の逆相パーパークロマトグラフィー: 脂肪酸の分離および定量は *p*-ブロムフェナシルエステル・2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン(ブロマゾン) 法¹⁵⁾ または遊離酸展開法¹⁶⁾ によつた。モノ-およびジグリセリドは石油炭化水素(b. p. 185~215 $^{\circ}$) を固定相とし, メタノール-酢酸-石油炭化水素(10:2:1) で逆相展開して分離, 検出した¹⁷⁾。呈色はローダミンB, ヨウ素, 過マンガン酸カリウム呈色などによつた。 β -ケトリゾレシチンの2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの逆相パーパークロマトグラフィーでも上記と同一の溶媒系を用いた。

蛇毒による酵素分解

Hanahan らの方法¹⁸⁾ を改変して行なった。精製卵黄レシチン 0.983 g をエーテル 100 ml に溶解し, 乾燥ハブ毒 0.030 g を 1 ml の水に溶かし水酸化ナトリウムで pH7.0 に調整した酵素液をこれに加え, 時々かきまぜつつ一夜放置した後, 生成したリゾレシチンの沈澱を遠心分離した。これをごく少量のクロロホルムに溶かし, 次にエーテルを加えて再沈澱させ, 遠心分離後エーテルで洗浄する。この操作を5回くり返してエーテル不溶のリゾレシチン 0.590 g を得た。また上記の上澄液, 洗液を合わせて減圧濃縮後, 遠心分離して沈澱を除き, 液層に水を加えて水酸化カリウムで中和し, これをエーテル抽出した後水溶液部を塩酸で酸性とし, 再度エーテル抽出を行なつて常法のごとく脱離脂肪酸を回収した。

なおリゾレシチンの精製には上記のケイ酸カラムによるクロマトグラフィーも一部利用した。

メタノリシスによる分解

Marinetti の方法¹⁴⁾ に準じて行なった。卵黄レシチン 1.180 g を含む無水エタノール溶液 5 ml をクロロホルム-メタノール(1:1) 60 ml で希釈した液を 0° に冷却し, これに予冷した 0.5 *N* ナトリウムメチラート-メタノール溶液 36 ml を加え, 0° で 4.5 分間振りまぜた後, 直ちに 3 *N* 塩酸-メタノール溶液 5.6 ml を加えて微酸性とし, 生成した食塩をロ別する。ロ液は減圧濃縮後クロロホルムを加え, 再び沈澱をロ別除去し, このロ液より溶媒を減圧留去してえられた残留油状物をアセトンで処理し, アセトン溶液と沈澱とに分別する。沈澱を少量のクロロホルムに溶かし, 多量のアセトンを加えて再沈澱させ, 遠心分離で沈澱部とアセトン溶液とに分別する操作を3回くり返した後, 沈澱部としてレシチンとリゾレシチンの混合物 0.488 g を得, この両者を上記のケイ酸カラムクロマトグラフィーで分別した。またアセトン溶液部を集めて, これから脱離脂肪酸またはそのメチルエステル 0.596 g を回収した。

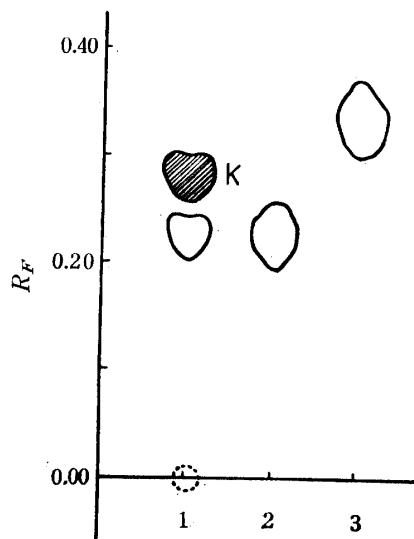
すい臓リパーゼによる酵素分解

すい臓リパーゼとしてはステアブシン(Nutritional Biochemicals Corp.) を -15° で数回アセトン洗浄したのち乾燥したものを使用した。以下分解法の一例を示す。

レシチン 1.770 g に 90 ml の水を加え, 水酸化カルシウム水溶液(または水酸化ナトリウム水溶液)を滴下して pH6.8 に調整する。これにすい臓リパーゼ 0.6 g を 10 ml の水に懸濁して上記同様 pH6.8 に調整した液を加え, 時々振りまぜつつ 37° で 10~15 時間放置する。反応液に 1 *N* 塩酸を加えて pH2.0 とし,

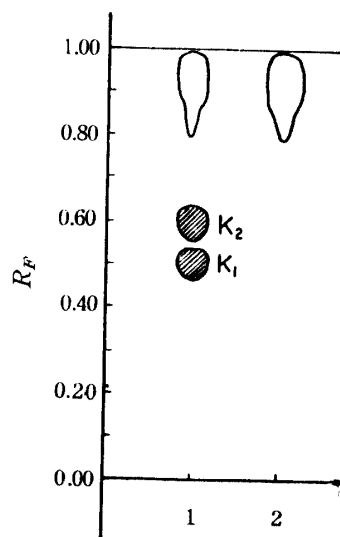
第1表 卵黄レシチンのハブ毒およびすい臓リパーゼによる加水分解生成物の脂肪酸組成

	原レシチン 構成酸	ハブ毒		すい臓リパーゼ		
		脱離酸	リゾレシチン 構成酸	脱離酸	モノグリセリド 構成酸	レシチン, リゾレシ チン混合物構成酸
中和価	207.1	199.0	216.2	208.9	203.6	206.3
ヨウ素価	74.3	139.3	4.4	47.1	96.5	77.9
脂肪酸	%	%	%	%	%	%
飽和酸	(49.2)	(6.4)	(96.0)	(64.2)	(37.0)	(43.7)
ミリスチン酸	3.9	1.2	12.3	4.5	2.6	3.7
パルミチン酸	34.4	3.5	59.7	37.9	25.8	28.3
ステアリン酸	10.6	1.5	22.6	21.3	8.2	11.2
アラキン酸	0.3	0.2	1.4	0.5	0.4	0.5
不飽和酸	(50.8)	(93.6)	(4.0)	(35.8)	(63.0)	(56.3)
ヘキサデセン酸	2.9	5.6		2.0	3.6	2.9
オレイン酸	7.0	49.0	3.4	22.8	32.3	33.7
オクタデカジ エン酸	4	28.1	0.6	9.3	19.8	14.5
オクタデカト リエン酸	0.5	1.0		0.1	0.9	0.6
アラキドン酸	2.5	6.0		1.1	3.7	2.7
C ₂₀₋₂₂ ペン タエン酸	1.1	2.4		0.3	1.6	1.0
C ₂₀₋₂₂ ヘキサ エン酸	1.4	1.5		0.2	1.1	0.9



第1図 リゾレシチン臭素酸化物のペーパークロマトグラム

ロ紙：ケイ酸固定ロ紙，溶媒系：ジイソブチルケトン-酢酸-水，展開：10°，13時間。
1, 臭素酸化物，試料液A；2, 未処理リゾレシチン；3, 原卵黄レシチン。



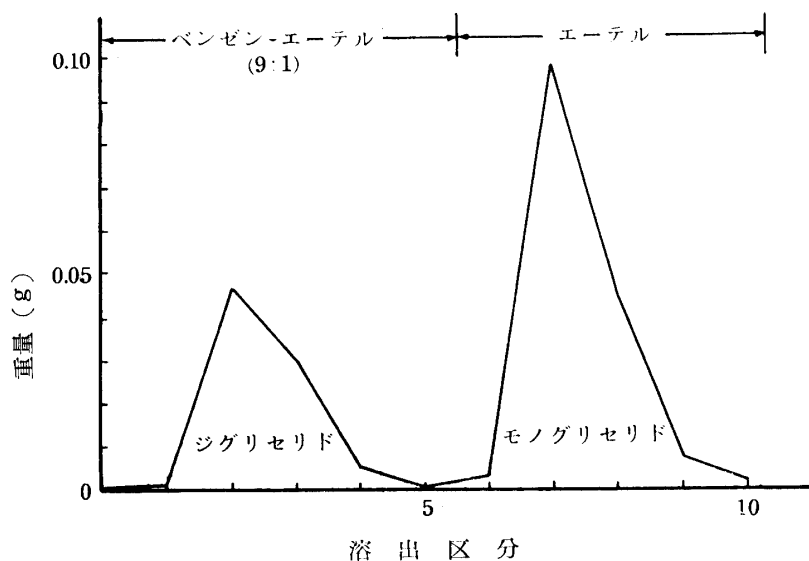
第2図 リゾレシチン臭素酸化物の2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの逆相ペーパークロマトグラム

溶媒系：メタノール-酢酸-石油炭化水素，展開：30°，6.5時間。

1, 臭素酸化物，試料液B；2, 未処理リゾレシチン

数回エーテル抽出して水溶液部とエーテル溶液とに分
離し，水溶液部は低温で濃縮して水溶性リン化合物そ
の他の検索に用いる。エーテル溶液はエーテルを留去
後，残留物にアセトンを加え，アセトン不溶物をエタ

ノールで抽出してこの抽出液からレシチンとリゾレシ
チンの混合物を回収する。アセトン溶液からはアセト
ンを留去し，残留物をエーテルで抽出してこの抽出液



第3図 卵黄レシチンのリパーゼ分解により生成したグリセリド部のカラムクロマトグラフィー

カラム：シリカゲル 17 g, 1.9×16 cm. 分別容量：30 ml.

を炭酸ナトリウム液で中和，水洗する。エーテル溶液部からはモノおよびジグリセリドが，洗液をも合わせた水溶液部からは塩酸酸性とした後エーテル抽出すれば脱離脂肪酸がそれぞれ回収される。

リゾレシチンの分解の場合も上記の方法に準ずる。

臭素によるリゾレシチンの酸化

リゾレシチン約 0.02 g に pH7.4 の 0.2M リン酸塩緩衝液 5 ml と 0.02 ml の臭素を加え，時々振りまぜつつ 24 時間放置する¹⁹⁾。反応液はクロロホルムで抽出し，クロロホルム層を水洗，脱水後低温で減圧濃縮し，残液をペーパークロマトグラフィーの試料液 A とする。またこの液の約半量をとってクロロホルムを完全に留去し，これに 0.5% 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン-2N 塩酸-メタノール溶液 1 ml を加え，2 時間室温に放置後エーテル抽出し，エーテル液を水洗，脱水，濃縮してペーパークロマトグラフィーの試料液 B とする。

実験結果

卵黄レシチンの純度

白色レグホンの卵 30 個から得られた卵黄約 450 g から前記方法によつて精製レシチン 11.8 g を得た。さらにこれを精製したものの分析値は次のとおりである。

N, 1.77% ; P, 3.89% ; コリン-N, 1.73% ; 脂肪酸, 68.7% ; 脂肪酸の平均分子量, 270.9 ; ヨウ素価 (ウィイス法), 52.6 ; N/P, 1.01 ; コリン-N/N, 0.98 ; 脂肪酸 /P, 2.02.

このものはニンヒドリン反応およびアセタールリン脂質の反応には陰性であり，ケイ酸固定口紙によるペーパークロマトグラフィーの結果もリゾレシチンを含む他のリン脂質を混入していないことを示した。なおこのものの脂肪酸組成は第1表のとおりである。

ハブ毒レシチナーゼ A による分解生成物

精製卵黄レシチンを前記の方法に従つてハブ毒レシチナーゼ A で分解すると，ほとんど定量的にリゾレシチンが生成する。このものはエーテル不溶性の白色固体で，精製したもののペーパークロマトグラムはリゾレシチンのスポットのみを与えた (第4図)。この際脱離した脂肪酸と，

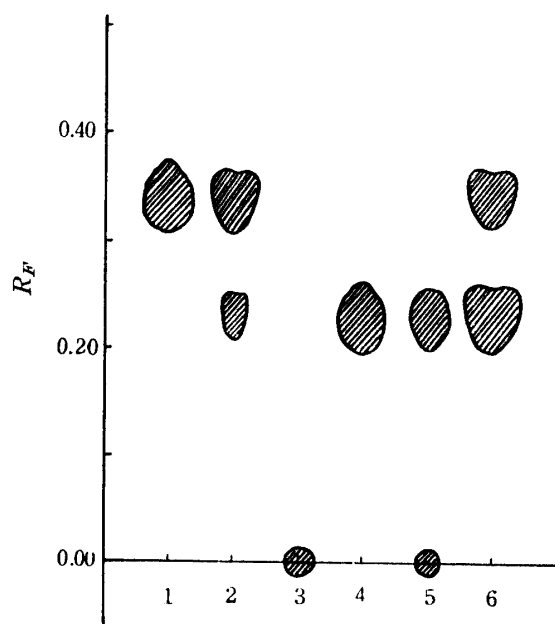
生成リゾレシチンを加水分解して得る結合脂肪酸との組成を第1表に示したが，大部分の不飽和酸が脱離脂肪酸部に，大部分の飽和酸がリゾレシチン結合酸部に集まっていることがわかる。

またこのリゾレシチンを臭素酸化してえられた試料液 A, B のペーパークロマトグラムをそれぞれ第1, 2図に示す。第1図で酸化後生成したスポット K (R_F 0.28) はコリン脂質の発色，ロードミン B 発色等を示すほか，2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンによつて強く発色するから¹⁹⁾，このスポットは β -ケトリゾレシチンのものと推定される。第2図の逆相ペーパークロマトグラムでも臭素処理したものは2個の黄色スポット， K_1 (R_F 0.50) および K_2 (R_F 0.60) を新生しているが，これらは β -ケトリゾレシチンの 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンのスポットと解釈される。スポットが2個存在するのは構成脂肪酸の相異により分離したものであろう。

レシチンのすい臓リパーゼ分解生成物

使用すい臓リパーゼ製品 (ステアプシン) はレシチンに対して一次的には主としてシチナーゼ A および D としての作用を示した。ただしこの酵素製品の精製段階ではその酵素力はまださほど強いものではない。グリセリドが最もよく生成する最適 pH は 6.2 付近にあり，カルシウムイオンによつて若干活性化される。

卵黄レシチン 1.770 g から前記のようにすい臓リパーゼで分解して脱離脂肪酸 0.275 g，モノおよびジグリセリド混合物 0.239 g，未反応レシチンとリゾレシチンの混合物 1.138 g (ペーパークロマトグラフィー (第4図) による定量値：レシチン 0.883 g ; リゾレ



第4図 卵黄レシチンの酵素分解生成物およびメタノリシスによる生成物のペーパークロマトグラム

ロ紙：ケイ酸固定ロ紙。溶媒系：ジイソブチルケトン-酢酸-水。展開：10°, 13時間。
1, 試料卵黄レシチン；2, リパーゼ分解後のリン脂質区分；3, リパーゼ分解後の水溶液部；4, 蛇毒によるリゾレシチン；5, 4のリパーゼ分解物；6, メタノリシスにより生成された粗リゾレシチン

シチン 0.250 g) を回収した。さらにモノおよびジグリセリド区分 0.239 g をケイ酸カラムクロマトグラフィーで分別した結果は第3図のごとくであつて、ジグリセリド 35.1%, モノグリセリド 64.9% の組成であることが判明した。ペーパークロマトグラフィーの結果もカラム分別におけるそれぞれの山の部分は、純粋のジグリセリドとモノグリセリドであることが確認された。またモノグリセリド部は α -モノグリセリド 20.7%, β -モノグリセリド 79.3% から成っていることがわかつた。以上の結果から概算すると原レシチンのうち約 50% が分解し、約 22% がリゾレシチンに、約 28% がグリセリド（ジグリセリド 6.5%, モノグリセリド 21.5%）に変化したことになる。

第1表はこのようにして分離された各区分の脂肪酸組成で、脱離脂肪酸部に飽和酸が多く、ことにステアリン酸が比較的多く脱離する傾向にあり、これに反しモノグリセリドやリゾレシチンに結合している脂肪酸は不飽和酸が主体であつた。

分解で生成したリン化合物については第4図のようにアセトン不溶のリン脂質区分からはリゾレシチンが見出され、水溶性リン化合物を含む水溶液部にはリ

ン脂質が混入してきていない。この水溶液部をエタノール-水 (8:1) を展開溶媒とするペーパークロマトグラフィーによつて分析したところ、ホスホリルコリン (R_F 0.33) のほかリン酸 (R_F 0.70) と推定される顕著なスポットが認められたが、グリセリルホスホリルコリン (R_F 0.53) のスポットは微弱であり、またコリン (R_F 0.59) その他がさらに変質して生成したと思われる強いコリンの呈色をするスポットが原点に現われている。グリセロリン酸 (R_F 0.00) やグリセリンはほとんど検出できなかった。その他不明の弱い呈色のスポットがなお2個現われている。以上の生成物の確認はイソプロパノール-ギ酸-水 (3:1:1) 系のペーパークロマトグラムとも対比して行なわれた。

酵素的調製リゾレシチンのすい臓リパーゼ分解生成物

前記のようにハブ毒レシチナーゼAによつて分解調製されたリゾレシチン 0.335 g にすい臓リパーゼ 0.1 g を加え、37°で10時間酵素分解を行なつた結果、脱離脂肪酸 0.0224 g, モノグリセリド 0.0212 g, 未反応リゾレシチン 0.257 g が回収された。従つてこの場合は原リゾレシチンの約22%が分解されたことになり、比較的分解されにくいことがわかつた。モノグリセリド部はさらにカラムで精製し、ペーパークロマトグラムで純度を確認した後分析に供した。

得られた脱離脂肪酸およびモノグリセリドに結合している脂肪酸の組成は第2表のごとくであつて、両者および原リゾレシチンの脂肪酸組成はほとんど同一であり、この分解の段階においては脂肪酸の種類に対する酵素の選択性はないものと認められる。

第4図のごとくリパーゼ分解後においては未反応リゾレシチンのほか水溶性リン化合物の生成が認められるが、分別された水溶液部のみのペーパークロマトグラフィーでは、前記レシチンの分解の場合と類似のクロマトグラムを示した。ただしホスホリルコリン、および原点付近のコリンの変質物と思われるスポットは強く発色したが、リン酸のスポットはやや弱く、グリセリルホスホリルコリンのスポットも比較的うすいものであつた。またこの場合はグリセリンが検出できたほか、未知のスポットもなお2個発見された。

化学的調製リゾレシチンのすい臓リパーゼ分解生成物

メタノリシスによつて卵黄レシチンから得られた粗リゾレシチンは第4図のように未反応レシチンを含み、ペーパークロマトグラフィーによる定量的結果リゾレシチンの純度は 55.1% であつた。これをケイ酸カラムでクロマトグラフ精製して得た精製リゾレシチ

第2表 リゾレシチンのすい臓リパーゼによる加水分解生成物の脂肪酸組成

脂 肪 酸	酵素的調製リゾレシチン			化学的調製リゾレシチン		
	原リゾレシチン 構 成	脱 離 酸	モノグリセリド 構 成	原リゾレシチン 構 成	脱 離 酸	モノグリセリド 構 成
	%	%	%	%	%	%
飽 和 酸	(96.0)	(93.5)	(94.8)	(49.6)	(63.9)	(36.6)
ミリスチン酸	12.3	9.7	9.6	3.8	3.5	2.8
パルミチン酸	59.7	59.2	60.2	34.6	37.0	25.3
ステアリン酸	22.6	23.0	23.7	10.7	22.9	8.1
アラキシン酸	1.4	1.6	1.3	0.5	0.5	0.4
不飽和酸	(4.0)	(6.5)	(5.2)	(50.4)	(36.1)	(63.4)
オレイン酸	3.4	5.6	4.4	29.7	22.4	35.2
オクタデカジ エン酸および ヘキサデセン 酸	0.6	0.9	0.8	17.9	10.2	21.8
オクタデカト リエン酸およ び高度不飽和 酸				2.8	3.5	6.4

ンの脂肪酸組成は第2表のとおりで、この反応で脱離した脂肪酸および原レシチンの脂肪酸組成と酷似しており、ランダムに脂肪酸が脱離し、 α' -および β -アシルリゾレシチン混合物を生成したものと想像される。

この精製リゾレシチン 0.190 g にすい臓リパーゼ 0.070 g を加え、37°で10時間酵素分解した結果、脱離脂肪酸 0.036 g、モノグリセリド 0.043 g、未反応リゾレシチン 0.054 g を得た。この結果は原リゾレシチンの約72%が分解されたことを示し、上記2種のリパーゼ分解の場合よりもよく分解している。モノグリセリド部はさらにケイ酸カラムクロマトグラフィーで精製し、ペーパークロマトグラフィーでも純度を確かめた上、その構成脂肪酸を分析した。

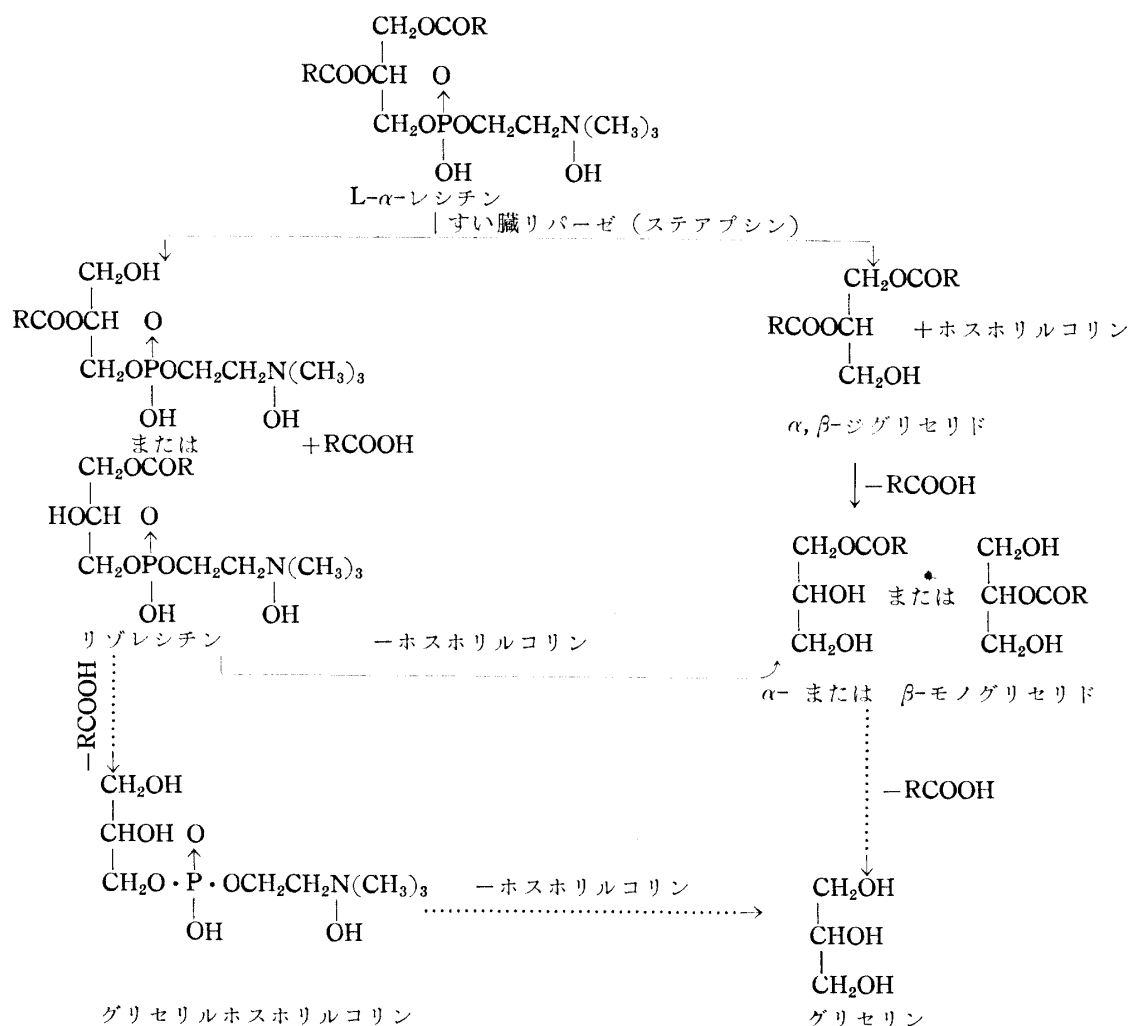
第2表にこの場合の脱離脂肪酸と、モノグリセリドに結合している脂肪酸との組成を示したが、脱離酸は飽和酸、モノグリセリドの脂肪酸は不飽和酸がそれぞれ主体であり、この関係と脂肪酸組成はレシチンをすい臓リパーゼで直接分解した際のそれとよく似ている。この場合もステアリン酸が比較的多く脱離脂肪酸中に集まる傾向がある。

水溶性化合物のペーパークロマトグラフィーは、上記レシチンの分解の場合と大体類似の結果を示し、ホスホリルコリン、リン酸、および原点付近のコリン変質物の各スポットが明らかに認められたほか、グリセリルホスホリルコリンのスポットもこの場合はかなり顕著であり、遊離グリセリンも検出された。その他未知のうすいスポット4個が見出されている。

考 察

卵黄レシチンのハブ毒レシチナーゼAによる加水分解においても脱離した脂肪酸はほとんどが不飽和酸であり、リゾレシチンに結合している脂肪酸はほとんどが飽和酸であつた。このことは以前に行なつたマムシ毒レシチナーゼAによる分解²⁰⁾の場合にも認められ、また通説とも一致するが、一般にいわれているように不飽和酸ばかりがほとんど100%完全に脱離するというわけではない。また生成リゾレシチンの臭素酸化生成物中には β -ケトリゾレシチンと推定される化合物が認められるところから、少なくともレシチンの β -エステル結合位置の一部または全部がこの酵素によって切断されているものと結論できる。

レシチンに対するすい臓リパーゼ製品(ステアプシン)の作用はこの精製段階ではなお比較的弱いものであつたが、主としてまずレシチナーゼAおよびDとして働き、リゾレシチンを生成する一方、ホスホリルコリンを遊離して α 、 β -ジグリセリドをつくり、ジグリセリドは次にリパーゼ本来の酵素作用によつてモノグリセリドにまで分解してゆくものと考えられる。またリゾレシチンからもホスホリルコリンを脱離してモノグリセリドを生成することができる。このほかにさらにグリセリンにまで分解する経路、およびリゾレシチンからグリセリルホスホリルコリンに分解してゆく経路もあるが顕著ではない。また生成したホスホリルコリンはさらに分解してリン酸とコリンおよびその変質物をつくるものとみられる。以上ステアプシンによる



卵黄レシチンの分解経路をまとめると別掲の図式のようになる。

ここでレシチンのすい臓リパーゼによる分解の際に脱離した脂肪酸が飽和酸を主体とし、モノグリセリドに残留結合している脂肪酸が不飽和酸を主体としていた事実をハブ毒レシチナーゼAによるレシチンの分解の場合と対比すると、脱離酸と結合酸の組成が逆になっていることがわかる。もし蛇毒レシチナーゼAの作用点が通説のごとくグリセリル基のβ-位置であるとするなら、すい臓リパーゼの場合はα'-位置の結合を切つていとみななければならない。一方すい臓リパーゼはグリセリドに対してそのα,α'-位置のエステル結合を特異的に切り、β-モノグリセリドを生成するといわれており²¹⁾²²⁾²³⁾、これについてはなお問題は残っているが²⁴⁾、一般的にいつてこの傾向は是認できるから、これに基づいて以上の酵素分解経路から考えると脱離脂肪酸は主としてα'-位置に結合し、残留結合脂肪酸は主としてβ-位置に結合していたものが多いと解釈できる。このことはまた生成モノグリセリド中にβ型が多かった事実、蛇毒によつて得られたリゾ

レシチンの結合脂肪酸もすい臓リパーゼで脱離した事実、およびランダムな脂肪酸の脱離によつて得られた化学的調製リゾレシチンのすい臓リパーゼ分解でも同様の結果が得られた事実などとも矛盾するものではない。

以上要するに、厳密にいうとなお問題はあるが、一般的にいつて卵黄レシチン分子におけるα'-エステル結合位置の脂肪酸は主として飽和脂肪酸から成り、β-位置の脂肪酸は主として不飽和酸から成つており、従つてハブ毒ホスホリパーゼAはおもにβ-位置のエステル結合に特異的に作用すると結論することも可能である。

なおすい臓リパーゼ分解の場合に、ある程度脂肪酸の種類に対する選択性の傾向が認められたが、この傾向は他のリン脂質⁵⁾²⁵⁾やグリセリド²⁴⁾の酵素分解の場合にもしばしば認められるもので、この点についても将来検討されねばならない。

本研究の一部は文部省科学研究費によつて行なつた。記して謝意を表する。

文 献

- 1) D. J. Hanahan : *J. Biol. Chem.*, **207**, 879 (1954)
- 2) N. H. Tattrie : *J. Lipid Research*, **1**, 60 (1959)
- 3) D. J. Hanahan, H. Brockerhoff, E. J. Barron : *J. Biol. Chem.*, **235**, 1917 (1960)
- 4) G. H. de Haas, L. L. M. van Deenen : *Biochim. et Biophys. Acta*, **48**, 215 (1961)
- 5) M. Noda, S. Song : *Agr. Biol. Chem.*, **26**, 119 (1962)
- 6) M. C. Pangborn : *J. Biol. Chem.*, **188**, 471 (1951)
- 7) R. J. L. Allen : *Biochem. J.*, **34**, 858 (1940)
- 8) L. W. Wheeldon, F. D. Collins : *Biochem. J.*, **70**, 43 (1958)
- 9) S. F. Herb, R. W. Riemenschneider : *Anal. Chem.*, **25**, 953 (1953)
- 10) E. G. Hammond, W. O. Lundberg : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **30**, 433 (1953)
- 11) 津田 滋 : モノグリセリド, p. 53 (1958)
- 12) P. Quinlin, H. J. Weiser, Jr. : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35**, 325 (1958)
- 13) G. V. Marinetti, E. Stotz : *Biochim. et Biophys. Acta*, **21**, 168 (1956)
- 14) G. V. Marinetti : *J. Lipid Research*, **3**, 1 (1962)
- 15) Y. Inouye, O. Hirayama, M. Noda : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **20**, 197, 200 (1956) ; 農化, **31**, 568 (1957)
- 16) H. P. Kaufmann, E. Mohr : *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **60**, 165 (1958)
- 17) 野田万次郎 : 色材, **34**, 109 (1961)
- 18) D. J. Hanahan, M. Rodbell, L. D. Turner : *J. Biol. Chem.*, **206**, 431 (1954)
- 19) G. V. Marinetti, J. Erbland, K. Temple, E. Stotz : *Biochim. et Biophys. Acta*, **38**, 524 (1960)
- 20) Y. Inouye, M. Noda : *Arch. Biochem. Biophys.*, **76**, 271 (1958)
- 21) F. H. Mattson, L. W. Beck : *J. Biol. Chem.*, **214**, 115 (1955); **219**, 735 (1956)
- 22) N. H. Tattrie, R. A. Bailey, M. Kates : *Arch. Biochem. Biophys.*, **78**, 319 (1958)
- 23) F. H. Mattson, R. A. Volpenhein : *J. Lipid Research*, **2**, 58 (1961) ; *J. Biol. Chem.*, **236**, 1891 (1961)
- 24) 野田万次郎 : 日本農芸化学会大会講演, 東京 (1960)
- 25) G. V. Marinetti, J. Erbland, E. Stotz : *Biochim. et Biophys. Acta*, **38**, 534 (1960)

Summary

By means of *Trimeresurus flavoviridis* venom and a pancreatic lipase preparation, the location of the fatty acids in egg lecithin and in egg lysolecithins prepared by enzymic and chemical hydrolysis has been studied. Fatty acids and phosphorylcholine were principally liberated from the egg lecithin by the pancreatic lipase preparation, leading to the formation of lysolecithins and di- and monoglycerides. The major components of the monoglycerides were β -monoglycerides. In this lipase hydrolysis, the predominance of saturated acids in the liberated fatty acids and of unsaturated acids in mono-

glycerides and lysolecithins was observed in contrast to the hydrolysis of lecithin by the snake venom which removed most of the component unsaturated acids. By oxidation with bromine, the lysolecithin obtained by venom hydrolysis gives a carbonyl compound which seems to be probably β -ketolysolecithin. These results show that the venom enzyme specifically hydrolyzes the β -linked fatty acids, and therefore the saturated fatty acids are located mainly on the α' -position, while the unsaturated acids are mainly on the β -position of egg lecithin.